Aus der Hautklinik der Universität Bonn.
Direktor: Professor Dr. Grütz.

Über die Verwendbarkeit verschiedener Peptone für Pilznährböden.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich Wilhelms-Universität zu Bonn.

Vorgelegt

am 24. Januar 1938

von

Alexander Chester

aus Brooklyn, N.Y. (USA.).

Druck von H. Trapp, Bonn, Stiftsgasse 11 / 1938.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn.

Referent: Prof. Dr. Grütz.

Korreferent: Prof. Dr. Selter.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen Eltern gewidmet!

Ehe ich meine experimentellen Arbeiten beschreibe, halte ich es für erforderlich, vorher einige nähere Ausführungen zu machen, um das Verständnis für die Arbeiten zu erleichtern.

Im Jahre 1910 teilte Sabouraud[1]) die Dermatomykosen in drei Gruppen ein:

a) Favus, b) Trichophytie, c) Microsporie

mit mehreren Unterteilungen. Sabouraud's Arbeit ist eine klinische Klassifizierung, die auf der Kenntnis der Herkunft des Materials beruht, und sie umfaßt nur eine beschränkte Anzahl von Erregerspecies im Vergleich zum großen Ganzen der Mykologie. Seine Arteinteilung der Dermatophyten gründete sich auf das Kulturmedium, das er benutzte: Maltose brute (Chanut) und Pepton granulée de Chassaing. Diese Präparate werden nur durch die Firma Cogit & Cie., Paris, vertrieben. Sabouraud's Klassifizierung wurde als internationale Nomenklatur für Dermatomykosen und sein Kulturmedium als Standardnährboden für die Artbestimmung der Dermatophyten anerkannt.

Als eine Folge des Weltkrieges und während des Krieges verbreiteten sich die Dermatophyten in Deutschland stark. Es war sehr schwierig, die zur Herstellung des Sabouraud-Nährbodens nötigen Präparate einzuführen. Es ergab sich daher in jener Zeit die Notwendigkeit, ein Kulturmedium aus deutschen Peptonen und Maltose herzustellen, das dem „Milieu d'épreuve (Sabouraud Malz-Peptonagar) nahekäme, oder eine Nomenklatur aufzustellen, die unabhängig von der Sabouraud-Klassifizierung wäre.

Grütz[2]) glaubte, daß letzteres nicht förderlich wäre, weil es leicht Verwirrung in einer wissenschaftlichen Disziplin stiften könnte, in der gewisse Klarheit geschaffen zu haben man mit Recht Sabouraud zum hohen Verdienst anrechnet.

W. Fischer[4]) versuchte die Anwendung von Malzbierwürze anstatt der Sabouraud-Maltose. Eine Schwierigkeit lag aber in der Ungleichmäßigkeit der Zusammensetzung der Bierwürze, und das

Ergebnis war eine große Verschiedenheit des Wachstums der Kulturen auf Bierwürze-Agar.

Im Jahre 1923 stellte Grütz[5]) fest, daß die Wahl eines geeigneten Peptons für die Klassifizierung der Dermatophyten auf künstlichen Nährboden äußerst wichtig sei, und daß das Pepton das charakteristische Wachstum verschiedener Kulturen entscheidend beeinflusse. Das Ergebnis langer vergleichender Versuche mit den verschiedensten Pepton- und Zuckerarten war, daß das französische Pepton granulée durch das deutsche Pepton „Knoll" und Sabouraud-Maltose durch „Nervina-Malz" am besten ersetzbar war.

Beim Vergleich des Wachstums der Pilze auf seinem Nährboden und dem Sabouraud's erzielte er folgende Ergebnisse:

1. Trichophyton crateriforme, Tr. accuminatum und Tr. violaceum zeigten dieselben Charakteristika wie bei Sabouraud.

2. Er konnte mit seinem Medium Tr. cerebiforme und Tr. plicatile identifizieren.

3. Tr. gyps. asteroides, radiolatum und granulosum zeigten nur sehr leichte Unterschiede im Vergleich mit Sabouraud.

4. Die Farbstoffbildung von Tr. rosaceum und vinosum auf dem Grütz-Nährboden ist besser als auf Sabouraud-Nährboden und geht nicht so schnell verloren.

5. Epid. inguinale, Microsporon Audouini, Microsporon lanosum, Microsporon depauperatum ließen sich genau wie auf „Milieu d'épreuve" auch auf Grütz' Nährboden differenzieren.

6. Das Wachstum von Achorion Schönleini, Ach. Quinckeaum und Ach. Violaceum ist ebenso typisch wie auf Sabouraud's Original-Nährboden.

Für das „Milieu de Conservation" (3% Peptonagar), dessen Zweck es ist, Pleomorphismus zu vermeiden und die Kultur haltbar zu machen, verwendete Grütz ebenfalls an Stelle des französischen Peptons das deutsche Pepton „Knoll"; für Plaut's Primär-Nährboden verwendete er statt Pepton „Witte" Pepton „Knoll" mit gutem Erfolg für Erstkulturen. Das „Milieu d'épreuve" war nicht so gut verwendbar für Primärkulturen wie der Grützsche Primärnährboden.

Engelhardt[6]) bestimmte erfolgreich zahlreiche Pilzarten mit Hilfe des Grütz-Nährbodens. Hartmann[7]) stellte ebenfalls Versuche mit Grütz-Nährboden an und fand ihn brauchbar. Karrenberg[8]) verglich den Grütz-Nährboden mit dem Sabouraud-„Milieu d'épreuve" und stellte fest, daß der erstere ihm in mancher Hinsicht überlegen war. In bezug auf Erstkulturen war nach seinen Erfahrungen die Grützsche Modifizierung des Plautschen Nährbodens viel besser als das „Milieu d'épreuve"; er fand weiterhin keine Unterschiede in Wachstum und Aussehen zwischen Sabouraud's „Milieu de Conservation" und dem Grützschen Ersatz-Kulturmedium.

Ferner machte Karrenberg Versuche mit vier verschiedenen Peptonen von a) Knoll, b) Chassaing, c) Witte, d) Schlüter, in Verbindung mit verschiedener Maltose, und bestätigte die Behauptung von Grütz, daß das Pepton für das Aussehen der Kultur von wesentlicher Bedeutung sei, und daß das Pepton Knoll ein Kulturwachstum bei Pilzen nach Sabouraudschen Merkmalen erzeuge.

Bruhns[10]) empfiehlt Grütz-Maltoseagar für Erst- und Nachkulturen. Er bemerkt auch, daß der Pollacci-Nährboden nicht von besonderem Wert ist, weil ein größerer Teil der Kulturen eine Neigung zu Unebenheiten und Wulstbildung zeigt, wodurch die Differenzierung erschwert ist.

Diese Ergebnisse sind insofern bedeutsam, weil noch im Jahre 1921 Weidman und MacMillan[9]), nachdem sie Pepton granulée de Chassaing durch amerikanisches Pepton (Difco) ersetzt hatten, erklärten, daß das französische Pepton unersetzlich sei. Sie forderten, daß ein Pepton die Eigentümlichkeiten einer jeden Spezies herausbringen müßte und nicht nur eines größeren Teiles. Das amerikanische Difco-Pepton zeitigt bei gewissen Pilzsorten in bezug auf das Wachstum atypische Ergebnisse. Aus diesem Grunde schlugen sie vor, einen neuen Nährboden aus bestimmten reinen Ingredienzien zu vernünftigem Preis herzustellen, der einer Standard-Säureziffer angepaßt sein und dem Sabouraud-Nährboden so nahe wie möglich kommen müsse.

Sabouraud[11]) ersetzte Maltose durch Bienenhonig. Der eigentliche Grund dafür war wohl, daß zu jener Zeit in Frankreich Mangel an Maltose herrschte. Er war der Meinung, daß der Honig aus den verschiedenen Ländern in seiner Zusammensetzung gleich sei, und daß das internationale Kulturmedium, das für die einheitliche Klassifizierung der Hautpilze wesentliche Voraussetzung ist, durch Verwendung von Honig als Kohlenhydratquelle in hinreichender Gleichmäßigkeit gewährleistet sei. Buschke[12]) sagt, daß die Ergebnisse, die mit Sabourand's Honig-Ersatzmittel erzielt werden, gut seien, ist aber doch der Meinung, daß noch weitere Versuche erforderlich seien, um dies zu bestätigen und um die Ähnlichkeiten zwischen dem Original und dem Ersatzmittel festzulegen. Bruhns[13]) bemerkt, daß die Honig-Kulturen „etwas dürftiger, weniger staftig" seien, und er findet manchmal eine Farbveränderung nach Gelb hin. Er glaubt, daß die meisten ebensogut wie das Original seien. — Pastorino[14]), der auch Honig als Ersatz für Maltose benutzt hat, folgert, daß dabei die meisten Pilze dasselbe Wachstum zeigen wie bei dem Sabouraud-Original-Nährboden. Pinelli[15]) meint ebenfalls, daß Honig ein gutes Ersatzmittel ist. Kapuscinski[16]) beobachtete verschiedene Pilze auf verschiedenen Nährböden (Maltose mit Pepton de Chassaing, Maltose mit Eiweiß) und stellte fest, daß die Nährböden bei Anwesenheit von Pepton deutlicher zu erkennen waren.

Man benutzte auch noch andere Nährböden zur Kultivierung der Dermatomykosen. Karrenberg[17]) züchtete pleomorphe Pilzstämme auf Gehirn-Nährböden, und es ist ihm gelungen, nach Rückimpfung auf Grütz-Nährboden wieder charakteristische Wachstumsformen zu erzielen. Gòmez J. de Cisneros, J. M.[26]) studierte das Wachstum zahlreicher Dermatophyten auf Nährböden aus tierischen Organen und gelangte zu folgenden Resultaten. Als konservierender Nährboden wurde Hirnbrei-Nährboden benutzt. Nicht pleomorphe Stämme bewahrten monatelang ihre charakteristischen Eigenschaften. Pleomorph gewordene Stämme behielten jedoch trotz monatelanger Züchtung auf Hirnbrei ihren Pleomorphismus bei und erlangten bei Rückimpfung auf die üblichen Pilznährböden ihre verlorene makro- und mikroskopischen Merkmale nicht wieder. Das

Farbstoffbildungsvermögen, das nicht pleomorphe Stämme verloren hatten, bekamen sie auch nach monatelanger Züchtung auf Hirnbrei nicht wieder. Baroni[18]) stellte einen Nährboden aus Kakao und Kakaobutter her und machte die Beobachtung, daß bei Zugabe dieser Substanzen das Wachstum besser als auf Sabouraud Original-Nährböden und die Virulenz der Kultur länger haltbar war. Hruszek[19-22]) benutzte zur Kulturdiagnose pflanzliche Nährböden von Gurken, Kürbis, Meerrettich usw. Scholz[23]) fand zwar beim Studium von neuen Nährböden für Pilze, daß Kartoffel- und Mohrrübenscheibchen sich für Erstkulturen sehr gut eigneten und daß ihre Verwendung praktisch und billig sei, die pflanzlichen Kulturmedien sind für das Studium der Pilze aber nicht verläßlich genug; sie mögen billig und leicht herzustellen sein, aber man muß damit rechnen, im Vergleich zum Sabouraud- oder Grütz-Nährboden zu viele Verschiedenheiten zu erhalten. Gòmez J. de Cisneros, J. M.[27]) stellt fest, „daß für die Isolierung von Hautpilzen aus Ausgangsmaterial Nährböden von pflanzlichen Polysacchariden weniger geeignet sind als die üblichen klassischen Nährböden von Sabouraud oder Grütz, insofern die Pilze darauf langsamer, spärlicher und atypischer anwachsen". Die typischen Merkmale gingen bei 15 verschiedenen Epidermophyton-, Achorion-, Microsporon- und Trichophyton-Stämmen völlig verloren. Diese Nährböden können daher die klassischen Pilznährböden nicht ersetzen.

Heute beschäftigen wir uns wieder mit der Aufgabe, ein Pepton zu finden, das als Ersatz für Pepton „Knoll" Verwendung finden kann, weil dasselbe im Handel nicht mehr zu haben ist. Mit Unterstützung der Firmen Witte, Merck und Riedel habe ich von einem praktischen Standpunkt aus versucht, einen Ersatz und, wenn möglich, auch eine chemische Wechselbeziehung zwischen den Peptonen, welche dieselbe Pilzwachstumsform erzeugen, und denen, die dies nicht tun, zu finden.

Ich verwandte die folgenden Peptone:

I. Gruppe:

1. Merck Pepton Siccum,
2. Riedel Pepton Siccum,
3. Witte Pepton e Carne,

4. Witte Pepton e Caseino,
5. Witte Pepton e Sanguine,
6. Witte Pepton-Glutin,
7. Witte Pepton-Fisch,
8. Witte Pepton-Hefe.

II. Gruppe:

1. Witte Mischpepton, bestehend aus gleichen Teilen von:
   Pepton-Glutin,
   Pepton-Fisch,
   Pepton e Carne,
   Pepton e Caseino,
2. Witte Pepton e Carne N.

III. Gruppe:

1. Klarlösliches Pepton Witte,
2. Tryptisch abgebautes Pepton Witte.

I. Teil.

Als Vergleichs-Standard-Nährböden benutzte ich die von Grütz[5, 24, 25]) angegebenen Nährböden:

1. Grütz' Ersatz für Sabouraud „Milieu d'épreuve":
   Pepton Knoll 5,0 g
   Nervina Malz (Christiansen-Flensburg) 80,0 g
   1,8% Agar 1000,0 g
2. Grütz' Ersatz für Sabouraud „Milieu de Conversation":
   Pepton Knoll 30,0 g
   1,8% Agar 1000,0 g

Nach dieser Herstellungsvorschrift wurden neue Nährböden mit den verschiedenen Peptonsorten der Gruppe I hergestellt und mit verschiedenen Dermatophyten der folgenden Sorten beimpft:

1. Sporotrichon Beurmanni I, II, III, IV, VI, VII,
2. Cephalosporium Acremonium Corda (2),
3. „ Frankfurt (2),
4. „ Baarn (2),
5. „ D. W. Forosi,
6. „ L. Giuseppe,
7. „ B 10 (a),

8. Sporotrichon Gougeroti,
9. Achorion Schönleini (2),
10. „ Quinckeanum (5),
11. „ Gypseum,
12. Microsporon Audouini,
13. Trichophyton Rosaceum,
14. Trichophyton Crateriforme,
15. Tr. Gyps. asteroides,
16. Tr. Faviforme album (3),
17. Tr. Violaceum,
18. Epidermophyton Kaufmann-Wolff,
19. „ „ „ Gypseum Varietät.

Nach 30—40 Tagen Wachstum, das heißt, wenn die Kulturen voll ausgewachsen waren, wurden sie auf typisches Aussehen hin mit den oben erwähnten Standard-Nährböden verglichen. Zum Verständnis der Tabellen ist eine Erläuterung der Nomenklatur notwendig. „Typisch" bedeutet, daß die Kultur auf dem Prüfungsnährboden ebenso wächst wie auf den Standard-Vergleichsnährböden; „ziemlich typisch" bedeutet, daß die Kultur in ihrer Spezies zwar leicht identifiziert werden k a n n, daß aber leichte morphologische Veränderungen hinsichtlich Größe, Gestalt oder Pigmentierung beim Vergleich mit dem typischen Aussehen festzustellen sind; „wenig typisch" will sagen, daß die Kulturmedien auf dem Prüfungsnährboden schwer zu identifizieren waren, da sie in Gestalt, Größe, Pigmentierung erhebliche Abweichungen gegenüber denen auf Standardnährböden zeigten; diejenigen, die ganz unähnlich wuchsen, wurden als „atypisch" bezeichnet (vergl. Tab. 1a).

Dabei ergaben sich folgende Resultate: P e p t o n K n o l l gab mit insgesamt 40 Stämmen der oben bezeichneten Arten 40 typische Resultate (im echten Sabouraud-Sinn), sowohl auf Nervina Malz-Peptonagar als auch auf reinem Peptonagar, womit also die 100%ige Brauchbarkeit unserer Standard-Vergleichsnährböden dargetan ist, die ja auch von anderen Autoren bestätigt wurde.

Die vorstehenden Wachstumsresultate mögen in ihrer Verschiedenheit durch einige Photos dargestellt sein. Die Kulturunterschiede auf den allein mit Knoll-Pepton, Pepton e Caseino Witte,

Tabelle I — Gruppe I.

	typisch	ziemlich typisch	wenig typisch	atypisch	kein Wachst.	Bemerkungen
1.						
a) Pepton Merck Nervina-Malz-Agar	—	4	28	8	—	Pepton Merck wandelt also das Pilzwachstum so ab, daß es das Pepton Knoll nicht ersetzen kann.
b) 3% Pepton Merck-Agar	—	—	3	37	—	
2.						
a) Pepton Riedel-Nervina-Malz-Agar	—	13	18	9	—	Pepton Riedel ist aus dem gleichen Grunde kein brauchbarer Ersatz.
b) 3% Pepton Riedel-Agar	—	4	12	24	—	
3.						
a) Pepton Witte e Carne-Nervina-Malz-Agar	—	31	7	2	—	Pepton Witte e Carne beginnt die Identifizierung zu ermöglichen, kann aber noch nicht als vollgültiger Ersatz für Pepton Knoll gelten.
b) 3% Pepton Witte e Carne-Agar	—	19	18	3	—	
4.						
a) Pepton Witte e Caseino-Nervina-Malz-Agar	—	32	6	2	—	Für Pepton Witte e Caseino gilt das gleiche wie für Nr. 3
b) 3% Pepton Witte e Caseino-Agar	—	22	14	4	—	
5.						
a) Pepton Witte e Sanguine-Nervina-Malz-Agar	—	21	11	5	3	Bewertung etwa wie bei Nr. 1 und 2.
b) 3% Pepton Witte e Sanguine	—	3	15	22	—	
6.						
a) Pepton-Glutin Witte-Nervina-Malz-Agar	1	29	3	2	5	Bewertung etwa wie Nr. 3 und 4.
b) 3% Pepton-Glutin Witte-Agar	—	27	12	—	1	
7.						
a) Pepton-Fisch Witte-Nervina Malz-Agar	1	30	7	1	1	Bewertung etwa wie Nr. 3, 4 und 6.
b) 3% Pepton-Fisch Witt-Agar	—	32	7	—	1	
8.						
a) Pepton-Hefe Witte-Nervina-Malz-Agar	1	31	6	1	1	Bewertung etwa wie Nr. 3, 4, 6 und 7.
b) 3% Pepton-Hefe Witte-Agar	—	23	16	—	1	

Pepton-Glutin Witte, Pepton-Fisch Witte und Pepton-Hefe Witte hergestellten Nährböden sind z. B. bei Cephalosporium Acremonium Corda besonders deutlich zu erkennen. Sie beweisen, daß der Peptonart allein ein wesentlicher Einfluß auf das makroskopische Aussehen der Kultur zukommt. (Siehe Abb. 1.) Dieser Einfluß des Peptons wird freilich undeutlicher bei Nährböden, die gleichzeitig noch Nervina-Malz enthalten, denn bei den entsprechenden Pepton-Nervina-Malzkulturen von Cephalosporium Acremonium Corda (Abb. 2) stellt man fest, daß die Kulturmedien mit Pepton e Caseino Witte im Vergleich zu Knoll ein „ziemlich typisches" Wachstum erzeugen und Pepton-Glutin Witte, Pepton-Fisch Witte und Pepton-Hefe Witte „wenig typisch" ausfallen. Auf Abbildungen der Kulturen anderer Pilze auf den verschiedenen Nährböden und auf Wiedergabe der umfangreichen Tabellen über die Wachstumsversuche kann im übrigen hier verzichtet werden, da das Wesentliche aus dem Text selbst hervorgeht. [1])

Auf den verschiedenen Pepton-Nervina-Malznährböden wurde Achorion Quinckeanum durchweg „ziemlich typisch", mit Ausnahme von dem mit Pepton Merck hergestellten, der ein atypisches Resultat ergab. Es scheint, daß flaumig wachsende Kulturen wie Achorion Quinckeanum verhältnismäßig wenig durch verschiedene Peptone abgewandelt werden.

Demgemäß wurde ein brauchbares Pepton, das als völlig befriedigender Ersatz für Pepton Knoll bei Grütz-Nährböden dienen könnte, in Gruppe I nicht gefunden.

II. Teil.

Weil nun bei der vorhergehenden experimentellen Prüfung im Vergleich zu den Standard-Nährböden sich viele „ziemlich typische" Wachstumsresultate ergeben hatten, so wurde aus der betreffenden Peptonen ein Mischpepton zu gleichen Teilen der Sorten

Witte Pepton e Carne,
Witte Pepton-Glutin,
Witte Pepton e Caseino,
Witte Pepton-Fisch

1) Spezieller Interessierten stehen Tabellen und Photos der Versuche gern zur Einsicht zur Verfügung.

hergestellt und aus diesen in gleicher Weise wie vorher Nährböden hergestellt. Außer diesem Mischpepton aus den oben genannten 4 Peptonsorten wurde ein weiteres Pepton: e Carne N, das uns von Witte zur Verfügung gestellt wurde, für unsere Versuche verwendet.

Als Vergleichs-Standardnährböden benutzten wir wiederum die von Grütz eingangs angegebenen Ersatz-Nährböden für Sabouraud's „Milieu d'épreuve" und „Milieu de Conservation" und auch Sabouraud's Original-Nährböden; die Rezepte für denselben sind wie folgt:

Sabouraud's Milieu d'épreuve		Sabouraud's Milieu de Conservation	
Agar 1,8%	100,0g	Pepton granulé de Chassaing	3,0 g
Pepton granulé de Chassaing	1,0 g	Agar 1,8%	100,0 g
Maltose von Chanut	4,0 g		

Nach dieser Vorschrift wurden neue Nährböden mit den Peptonsorten der Gruppe II, die also

a) das Mischpepton,

b) das Pepton e Carne N Witte

als „Unbekannte" umfaßt, hergestellt und mit 40 verschiedenen Dermatophyten derselben Sorten wie vorher beimpft.

Nach 30—35 Tagen Wachstum, d. h. wenn die Kulturen voll ausgewachsen waren, wurden sie auf typisches Aussehen hin mit den Original-Sabouraud- und Grütz-Nährböden als Standard verglichen.

Dabei ergaben sich folgende Resultate:

Tabelle II — Gruppe II.

	typisch	ziemlich typisch	wenig typisch	atypisch	pleom.	kein Wachst.	Bemerkungen
1.							
a) Orig. Sabouraud Milieu d'épreuve	37	—	—	—	2	1	
b) Orig. Sabouraud Milieu de conservation	39	—	—	—	1	—	
2.							
a) Grütz Milieu d'épreuve	35	1	1	—	2	1	Wieder erwies sich Pepton Knoll dem Pepton de Chassaing als fast gleichwertig.
b) Grütz Milieu de conservation	39	—	—	—	1	—	
3.							
a) Mischpepton Witte Nervina Malz-Agar	18	20	—	—	2	—	Mischpepton Witte zeigt kleine Abweichungen im Vergleich zu beiden Standardnährböden; deswegen kann es aber noch nicht als vollgültiger Ersatz für Pepton Knoll und Pepton de Chassaing gelten.
b) 3% Mischpepton Witte-Agar	26	13	—	—	1	—	
4.	32	6	—	—	1	1	Pepton e Carne N Witte zeigt mehr typische Resultate als alle andern Peptone, die ich geprüft habe und kann als fast gleichwertig im Vergleich zu Pepton Knoll u. Pepton de Chassaing angesehen werden.
a) Pepton e Carne N Witte Nervina Malz-Agar	32	7	—	—	1	—	
b) 3% Pepton e Carne N Witte							

Bei den Pilzen Sporotrichon Beurmanni I, II, III, IV, VI, VII (Maltose-Pepton) war zu bemerken, daß die Pigmentbildung bei den

Pepton e Carne N Witte-Nährböden derjenigen bei den Pepton Knoll- und den Pepton de Chassaing-Kulturen überlegen war. Ferner ergab sich, daß bei dem Milieu d'épreuve mit Pepton Knoll und dem Milieu d'épreuve mit Pepton e Carne N Witte das Kulturwachstum womöglich noch charakteristischer war als bei den Original-Sabouraud-Nährböden.

Bei Cephalosporium Acremonium Corda und Cephalosporium Frankfurt ist festzustellen, daß dieser Pilz auf allen Kulturmedien identifiziert werden konnte, daß aber das Kolonienwachstum auf Sabouraud-Nährböden am meisten charakteristisch ist.

Aber die rotbraune Pigmentbildung von Cephalosporium Acremonium Corda war bei Milieu d'épreuve mit Pepton Knoll viel stärker als bei Original-Sabouraud, und diejenige bei Pepton e Carne N Witte der bei Pepton Knoll sehr ähnlich.

Achorion Schönleini- und Achorion Quinckeanum-Kulturen konnten auf allen Nährböden identifiziert werden und waren in allen Eigentümlichkeiten ähnlich dem Wachstum auf Original-Sabouraud-Milieu d'épreuve-Nährböden und den mit Pepton Knoll.

Microsporon Audouini war im Vergleich mit dem Kulturwachstum bei Pepton Knoll und Pepton de Chassaing auf Pepton e Carne N Witte und Mischpepton Witte „ziemlich typisch". Beim Mischpepton waren die Radiärstreifen der Kolonie etwas tiefer; bei Pepton e Carne N Witte war eine Knopfbildung nicht zu erkennen.

Bei allen Kulturen von Tr. Rosaceum und Tr. Violaceum war der Farbstoff auf dem Prüfungsnährboden erhalten, und sie waren im echten Sabouraud-Sinn typisch.

Das Kulturwachstum von Tr. crateriforme, Tr. gypseum asteroides, Tr. faviforme album, Epidermophyton Kaufmann-Wolff und Epidemophyton Kaufmann-Wolff-Gypseum Varietät war auf den Prüfungsnährböden der Gruppe II ähnlich dem auf Grütz- wie auch Sabouraud-Nährboden.

Bei den 3% Pepton-Nährböden von Pepton-Chassaing, Pepton Knoll und Pepton e Carne N Witte zeigten sich wenig Wachstumsunterschiede. Bei 13 Dermatophyten auf 3% Mischpepton-Nährböden ergaben sich leichte Unterschiede im morphologischen Aussehen, sie konnten aber immerhin gut identifiziert werden.

Damit war der zweite Teil der experimentellen Arbeit beendet, der das wichtige Ergebnis hatte, daß Pepton e Carne N Witte als ein brauchbarer Ersatz für Pepton Knoll bei der Herstellung von Pilz-Nährböden nach der Vorschrift von Grütz anzusehen ist. Auch das Mischpepton gab keine unbrauchbaren Resultate, jedoch dürfte ihm schon aus praktischen Gründen das Pepton e Carne N Witte vorzuziehen sein.

III. Teil.

Schließlich wurde noch

a) ein klarlösliches Pepton und

b) ein tryptisch abgebautes Pepton

von der Firma Witte für unsere Versuche zur Verfügung gestellt, da mit der Möglichkeit zu rechnen war, daß sie das Pilzwachstum vielleicht auch in interessanter Weise beeinflussen würden.

Als Vergleichs-Standardnährböden benutzte ich wieder die von Grütz angegebenen Nährböden (Nervina Malz-Pepton Knoll) und einen Nährboden, hergestellt aus Nervina Malz-Pepton e Carne N Witte, welch letzteren wir bereits als vollgültigen Ersatz für Nervina Malz-Pepton Knoll-Nährböden nachgewiesen haben. Nach der oben angegebenen Vorschrift wurden neue Nährböden mit den beiden Peptonsorten der Gruppe III hergestellt und mit 25 Stämmen der folgenden 18 Dermatophyten beimpft:

1. Sporotrichon Beurmanni I, VI, VII
2. Cephalosporium Acremonium Corda (2)
3. „ „ Frankfurt
4. „ „ D.W. Forosi
5. „ „ L. Giuseppe
6. „ „ B 10 (a)
7. Sporotrichon Gougeroti
8. Achorion Schönleinii
9. „ Quinckeanum
10. „ Gypseum
11. Microsporon Audouini

12. Trichophyt. Rosaceum
13. „ Crateriforme
14. „ Gyps. asteroides
15. „ Faviforme album
16. „ Violaceum
17. Epidermophyton Kaufmann-Wolff
18. Epidermophyton Kaufmann-Wolff Gyps. Varietät.

Nach 30 — 35 Tagen, d. h. wenn die Kulturen voll ausgewachsen waren, wurden sie auf typisches Aussehen hin mit dem Grütz-Nährboden und dem Pepton e Carne N Witte-Nährboden als Standard verglichen (vergl. Tab. 3a, 3b).

Dabei ergaben sich folgende Resultate:

Tabelle III — Gruppe III.

	typisch	ziemlich typisch	wenig typisch	atypisch	pleom.	Bemerkungen
1.						
a) Pepton Knoll Nervina Malz-Agar	24	—	—	—	1	
b) 3% Pepton Knoll-Agar	24	—	—	—	1	
2.						Hier ist wiederum der Beweis, daß Pepton e Carne N nur geringe Abänderungen macht u. deshalb ein brauchbarer Ersatz f. Pept. Knoll ist.
a) Pepton e Carne N Witte Nervina Malz-Agar	20	4	—	—	1	
b) 3% Pepton e Carne N Witte-Agar	21	2	1	—	1	
3.						Klarlösliches Pepton Witte zeigt nur kleine Abweichungen im Vergleich zu beiden Standard-Nährböden; trotzdem kann es nicht als brauchbarer Ersatz für Pepton Knoll gelten.
a) Klarlösliches Pepton Witte-Nervina Malz-Agar	10	12	2	—	1	
b) 3% Klarlösliches Pepton Witte-Agar	11	13	—	—	1	
4.						Tryptisch abgebautes Pepton Witte zeigt noch bessere Resultate als Pepton e Carne N Witte bei diesen Versuchen im Vergleich zum Pepton Knoll, und aus diesem Grund kann es auch als brauchbarer Ersatz für Pepton Knoll gelten.
a) Tryptisch abgebautes Pepton Witte-Nervina Malz-Agar	23	—	1	—	1	
b) 3% tryptisch abgebautes Pepton Witte-Agar	22	2	—	—	1	

Auf Nährböden mit klarlöslichem Pepton ergeben Sporotrichon Beurmanni I, VI, VII stärker gewulstete Kolonien ohne Pigment (mit Ausnahme von Beut. VII) also nur „ziemlich typische" bzw. „wenig typische" Resultate.

Sporotrichon Beurmanni I zeigten in diesem Versuch im Gegensatz zu früheren Versuchen auf Pepton Knoll-Kulturen kein Pigment, das aber sowohl bei Pepton e Carne N Witte — und tryptisch abgebauten Pepton-Nährböden in geringem Grade vorhanden war. Bei den Kulturen von Sporotrichon Beurmanni VI und VII mit tryptisch abgebautem Pepton fehlte die Pigmentbildung, dagegen war sie bei denen mit Pepton e Carne N Witte und Knoll-Pepton vorhanden.

Diese Beobachtungen sprechen lediglich für das zeitweise Schwanken der Reichhaltigkeit der Pigmentproduktion beim gleichen Stamm, wie es jedem Pilzforscher bekannt ist.

Die Kulturen der Gruppe III von Ceph. Acremonium Corda waren alle denen auf Pepton Knoll(Nervina Malz)-Nährböden ähnlich, mit Ausnahme der auf Nährböden von klarlöslichem Pepton (sie waren leicht abgewandelt, konnten aber indentifiziert werden und wurden mit „ziemlich typisch" bezeichnet).

Die Kulturen der Cephalosporium-Stämme und von Sporotrichon Gougeroti waren bei den Nährböden mit tryptisch abgebautem Pepton „typisch" und sowohl denen mit Knoll-Pepton als auch Pepton e Carne N Witte durchaus gleich.

Achorion Schönleinii und Ach. Quinckeanum zeigten bei allen Nährmedien typische Resultate.

Typische Resultate ergaben auch die Kulturen von Tr. Rosaceum und Tr. Violaceum bei guter Farbstoffbildung, die bei allen Nährböden erhalten blieb.

Ausgenommen auf Nährböden mit klarlöslichem Pepton Witte, die „ziemlich typisches" Wachstum ergaben, zeigten die Kulturen von Microsp. Audouini, Tr. crateriforme, Tr. faviforme album auf tryptisch abgebauten Pepton-Witte-Nährböden die typischen Wachstumscharakteristika.

Typische Ergebnisse erzielte man auch mit den Arten Tr. gyps. asteroides und Epidermophyton Kaufmann-Wolff Gypseum-Varietät bei allen Nährböden.

Die reinen Pepton-Nährböden der Gruppe III und Pepton Knoll-Nährböden zeigten die typischen Eigentümlichkeiten der Pilze und gestatteten in Bezug auf morphologisches Wachstum leicht ihre Klassifizierung. Der Nährboden mit klarlöslichem Pepton Witte ergab leichte Verschiedenheiten, und 13 von den Dermatophyten waren darauf nur „ziemlich typisch".

Damit war der dritte Teil der experimentellen Arbeit beendet, der das wichtige Ergebnis hatte, daß auch tryptisch abgebautes Pepton Witte als ein brauchbarer Ersatz für Pepton Knoll bei der Herstellung von Pilz-Nährböden nach der Vorschrift von Grütz anzusehen ist. Auch das klarlösliche Pepton Witte gab keine unbrauchbaren Resultate, jedoch dürfte ihm das tryptisch abgebaute Pepton Witte vorzuziehen sein.

Nach diesen Kulturergebnissen war es von Interesse zu prüfen, ob eine bestimmte Beziehung zwischen der chemischen Analyse der Peptone und ihrer praktischen Brauchbarkeit für Pilznährböden bestehe.

Die Unterstützung der Firma Witte, deren Chemiker die folgenden Peptone:

1. Pepton Knoll,
2. Pepton e Carne N Witte
3. Pepton granulé Cogit,
4. Pepton e Carne Witte
5. Pepton e Caseino Witte
6. Pepton e Sanguino Witte
7. Pepton-Fisch Witte
8. Pepton-Glutin Witte
9. Pepton-Hefe Witte
10. Mischpepton Witte, bestehend aus gleichen Teilen Glutin-Carne, Fisch-Caseino
11. Tryptisch abgebautes Pepton Witte
12. Klarlösliches Pepton Witte

quantitativ in bezug auf ihren Gesamtstickstoff und Aminosäurestickstoff, qualitativ auf Tyrosin-, Tryptophan- und Cystingehalt, ferner Cl-Gehalt untersuchten, setzt mich in den Stand, die diesbezüglichen Resultate hier mitzuteilen. Ich selbst bestimmte die pH-

Konzentration der fertigen Nährböden. Es wurde dabei die Indikator-Methode angewandt und die pH-Konzentration sowohl der verschiedenen „Milieu de Conservation" als auch der verschiedenen „Milieu d'épreuve"-Sorten festgestellt und aufgezeichnet.

Wenn man die Ergebnisse der chemischen Analysen, zunächst der vier von uns für die Hervorbringung der charakteristischen Wachstumsformen der Pilze am brauchbarsten befundenen Peptonsorten betrachtet, so zeigt sich,

1. bei Pepton Knoll:
   ein Gesamt-N von 12,87% entsprechend 80,44% Eiweißabbauprodukte; [1])
   Aminosäurestickstoff 2,61% entsprechend 20,3% vom Gesamt-N;
   Tyrosin und Tryptophan vorhanden.
   Cystin nicht nachweisbar.
   Wasserstoffionenkonzentration bei
   Milieu de conservation 5,4 pH
   Melieu d'épreuve 4,2 pH
   Cl-Gehalt gering.
2. Pepton granulée de Chassaing:
   Gesamt-N 12,46% entsprechend 77,9% Eiweißabbauprodukte;
   Aminosäurestickstoff 3,09% entsprechend 24,0% vom Gesamt-N;
   Tyrosin und Tryphtophan war +++;
   Cystin nicht nachweisbar.
   Milieu de conservation 4,8—5,0 pH
   Milieu d'épreuve 4,3 pH
   Cl-Gehalt: +.
3. Pepton e Carne N Witte:
   Gesamt-N 12,34% entsprechend 77,13% Eiweißabbauprodukte;
   Aminosäurestickstoff 2,16% entsprechend 17,34% vom G-samt-N;

1) Diese und folgende Zahlen sind errechnet durch Multiplikation mit dem üblichen Eiweißfaktor 6,25.

Tyrosin und Tryptophan: +++; Cystin: ++;
Wasserstoffionenkonzentration bei
Milieu de conservation 5,4—5,6 pH
Milieu d'épreuve 5,0—5,20 pH
Cl-Gehalt: +.

4. Tryptisch abgebautes Pepton Witte:
Gesamt- 12,95% entsprechend 80,94% Eiweißabbauprodukte;
Aminosäurestickstoff 3,81% entsprechend 29,4% vom Gesamt-N;
Tyrosin und Tryptophan: +++; Cystin: +.
Wasserstoffionenkonzentration bei
Milieu de conservation 6,3 pH
Milieu d'épreuve 4,2 pH
Cl-Gehalt: +.

Aus diesen chemischen Analysen ist eine eindeutige Beziehung zwischen den 4 Peptonen, die sich vom praktischen Gesichtspunkt aus für das charakteristische Wachstum der Dermatophyten am brauchbarsten erwiesen, nicht zu erkennen. (Bezüglich der chemischen Analysen der anderen geprüften, aber ungeeignet befundenen Peptone vgl. Tab. 4.) Auch bei den Peptonen, die sich im Verlaufe meiner Versuche nicht als brauchbarer Ersatz für Pepton Knoll erwiesen, war der Grund dafür aus den Analysen nicht erkennbar.

Gefolgert werden kann daher nur, daß die pH-Konzentration zwischen 4 und 6,3 sein muß, das heißt im Vergleich zu den Bakterienkulturen, die einen basischen Nährboden verlangen, bevorzugen die Dermatophyten einen sauren Nährboden — was bereits bekannt war. Die Gegenwart von Cystin scheint nicht erforderlich, da es bei Knoll- wie auch bei Chassaing-Pepton fehlt, ohne ihre Brauchbarkeit zu beeinträchtigen. Was den Gesamtstickstoff und den Aminosäurestickstoff anbetrifft, so zeigen die verschiedenen Peptonsorten verschiedene Zahlen dafür ohne deutliche Beziehung zueinander.

Auf Grund der obigen chemischen Analysen der für unsere Zwecke verwandten Peptone läßt sich also nicht aussagen, worauf ihre mehr oder weniger gute Eignung als Nährsubstrat für Pilznährböden beruht; um diese Frage zu klären, wären viel umfassendere

und planmäßigere Untersuchungen im Rahmen der Bedingungen des Verwendungsstoffwechsels der Pilze notwendig, zu denen uns die Möglichkeit fehlte.

Zusammenfassung.

1. Pepton e Carne N Witte ist ein brauchbarer Ersatz für Pepton „Knoll" bei den von Grütz als Ersatz für Sabouraud's Originalnährböden angegebenen Kulturmedien für Dermatophyten.

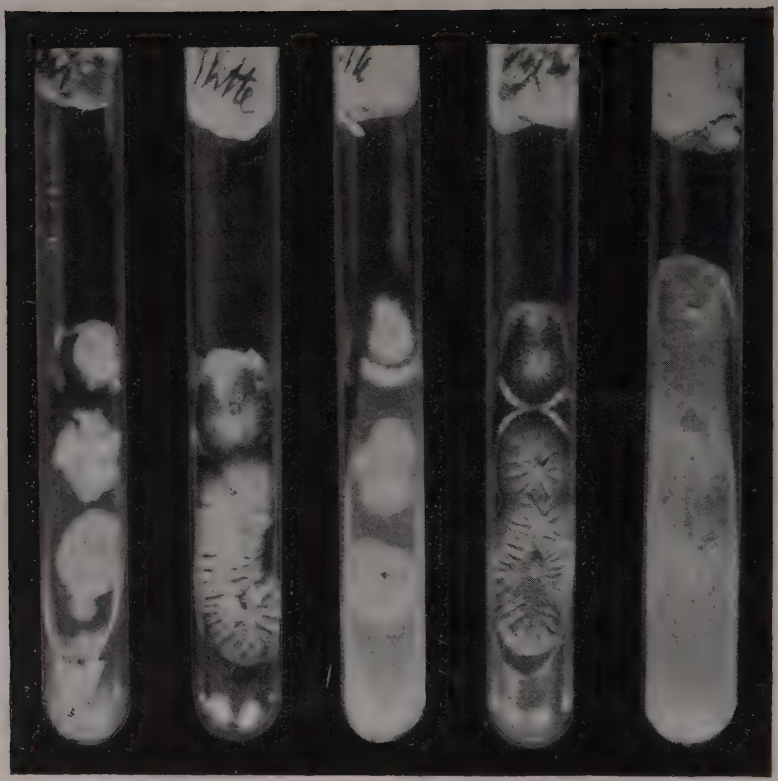
2. Tryptisch abgebautes Pepton Witte kann ebenfalls als brauchbarer Ersatz für Pepton „Knoll" in Pilznährböden dienen.

3. Pepton e Carne N wird unter dem Namen Mykopepton A, tryptisch abgebautes Pepton unter dem Namen Mykopepton B von der Firma Friedrich Witte Rostock in den Handel gebracht.

Nr.	Pepton	Gesamtstickstoff	Aminosäurestickstoff
1	Pepton „Knoll“	12,87 % N = 80,44 % Eiweißabbauprodukte	2,61 % = 20,3 % vom Gesamtstickstoff N
2	„Cogit“ Pepton granulé	12,46 % N = 77,9 % Eiweißabbauprodukte	3,09 % = 24,0 % vom Ges. N
3	Pepton e Carne N Witte	12,34 % N = 77,13 % Eiweißabbauprodukte	2,16 % = 17,34 % vom Ges. N
4	Pepton F. O. Witte tryptisch abgebaut	12,95 % N = 80,94 % Eiweißabbauprodukte	3,81 % = 29,4 % vom Ges. N
5	Pepton e Carne Witte	12,71 % N = 79,44 % Eiweißabbauprodukte	2,54 % = 20,0 % vom Ges. N
6	Pepton e Caseino Witte	11,47 % N = 71,71 % Eiweißabbauprodukte	2,04 % = 17,7 % vom Ges. N
7	Pepton e Sanguine Witte	14,81 % N = 92,54 % Eiweißabbauprodukte	2,50 % = 16,88 % vom Ges. N
8	Pepton-Fisch Witte	14,48 % N = 90,50 % Eiweißabbauprodukte	2,77 % = 19,13 % vom Ges. N
9	Pepton-Glutin Witte	15,02 % N = 93,88 % Eiweißabbauprodukte	2,41 % = 16,04 % vom Ges. N
10	Pepton-Mischung (gleiche Teile) Glutin, Carne, Fisch, Caseino	13,41 % N = 83,81 % Eiweißabbauprodukte	2,50 % = 18,64 % vom Ges. N
11	Pepton-Hefe Witte	7,65 % N = 47,81 % Eiweißabbauprodukte	2,02 % = 26,41 % vom Ges. N
12	Pepton Siccum-Merck	86 % Eiweißabbauprodukte	Nicht bekannt
13	Pepton Riedel	nicht	bekannt
14	Klarlösliches Pepton Witte	13,63 % N = 85,2 % Eiweißabbauprodukte	5,71 % = 41,9 % vom Ges. N

lle 4.

Qualitativer Amino-Nachweis		Wasserstoffionenkonzentration Milieu de conservation	Milieu d'épreuve	Cl-Gehalt
Tyrosin Tryptophan Cystin	+ + —	5,4 pH	4,2	schwach Cl
Tyrosin Tryptophan Cystin	+++ +++ —	4,8—5,0	4,3	Cl +
Tyrosin Tryptophann Cystin	+++ +++ ++	5,4–5,6	5,0–5,2	Cl +
Tyrosin Tryptophan Cystin	+++ +++ +	6,3	4,0—4,2	schwach Cl
Tyrosin Tryptophan Cystin	++ ++ ++	6,2—6,4	4,0—4,2	Cl +
Tyrosin Tryptophan Cystin	+++ + +	5,2	4,4	Cl +
Tyrosin Tryptophan Cystin	+++ ++ +++	6,8—7,0	5,2 - 5,4	Cl +
Tyrosin Tryptophan Cystin	++ — (+)	6,7	4,2—4,4	Cl +
Tyrosin Tryptophan Cystin	(+) — —	5,6	4,2—4,4	schwach Cl
Tyrosin Tryptophan Cystin	+++ +++ ++	5,4	3,8—4,0	Cl +
Tyrosin Tryptophan Cystin	+++ +++ ++	6,2 6,4	4,8—5,0	Cl +
Tyrosin Tryptophan Cystin	+ + +	Nicht	bekannt	Cl +
Tyrosin Tryptophan Cystin	Nicht	Nicht bekannt		
Tyrosin Tryptophan Cystin	Nicht bekannt	6,1	5,4	Nicht bekannt



Cephalosporium-Acremonium Corda Tab. I (b) 7—8
3 % Reiner Pepton-Agar („Milieu de conservation")

	mit			
Pepton Knoll	Pepton Witte è Caseino	Pepton Witte Glutin	Pepton Witte Fisch	Pepton Witte Hefe
Typ.	W. t.	Z. t.	W. t.	W. t.

Abb. 1.

Cephalosporium Acremonium Corda Tab. I (a) 7—8
Nervina-Malz-Agar („Milieu d'épreuve")

Pepton Knoll	Pepton Witte è Caseino	mit Pepton Witte Glutin	Pepton Witte Fisch	Pepton Witte Hefe
typ.	Z. t.	W. t.	W. t.	W. t.

Abb. 2.

Literaturverzeichnis.

1. Sabouraud: Les tégines. 1910.
2. Grütz: Demonstration von Pilzkulturen. Arch. f. Derm. u. Syphil. Bd. 138, 1922.
4. Bruhns u. Alexander: Grundriß der mykologischen Diagnostik. Verlag Jul. Springer 1932.
5. Grütz: Beiträge zur Kultur der Dermatophyten und ihre Artunterscheidung mittels deutscher Pilznährböden. Derm. Wschr. 1923, 76. Bd., 26a.
6. Engelhardt: Über zwei Fälle von Hauterkrankungen, hervorgerufen durch ein sporotrichonartiges Moriosporium. Derm. Wschr. 43, Bd. 79.
7. Hartmann: Über ein gemeinsames Vorkommen von Gephalosporium und Tr. gypseum. Derm. Wschr. 17, Bd. 82.
8. Karrenberg: Züchtung und Definition pathogener Pilze mittels Grützscher Nährböden. Knolls Mitt. f. Ärzte, Jan. 1927.
9. Weidman u. McMillan: A Comparison of Ingredients of Ringworm Culture Mediums. Arch. of Derm. a Syphil. 4, Bd. 1, 1921.
10. Bruhns: Einige Bemerkungen über verschiedene Pilzarten und Pilznährböden, Grütz-Agar, Polacci-Agar. Derm. Ztschr. Bd. 53, 1928.
11. Sabouraud: Note sur le replacement de tout sucre dans les Milieux de culture des dermatophytes par le miel d'abeilles Ann. de dermat. et de syphil., Bd. 6, No 8/9, 1925.
12. Buschke: Berliner Dermat. Ges. Sitzung 9. III. 1926.
13. Bruhns: Ebenda.
14. Manca Pastorini: Esperimenti sulla Sostituzione del Miele agli Zuccheri nel terreno di Prova di M. R. Sabouraud. Studi Sassaresi, Bd. 4, 1926.
15. Pinelli, L. u. Pittalis, F. Substrati di Coltura al miele per lo studio del Miceti. Ann. Igiene 42, 1932.
16. Kapuscinski, St. Sur la biologie des tégines. Rev. Franç. de dermatol. et de vénér. Jg. 1,5; 1925.
17. Karrenberg: Dermat. Ges. Hamburg, 13. 6. 1926. Demonstration von Pilzkulturen auf verschiedenen Nährböden.

18. Baroni, B. Sur un milieu de culture pour le développement et le conservation des Champignons Pathogènes. Soc. Biol. Paris, 100, 1925.
19. Hruzek, H. Kongreß-Bericht. Deutsche Dermat. Ges., Arch. f. Derm. 172.
20. Hruzek, H. Pilz, Sporotrichon, Actinomyces. Bakterien- u. andere Kulturen auf Gurkenschnitten. Arch. Derm. 170, 1934.
21. Hruzek, H. Vergleichende Kulturen von Pilzen auf verschiedenen neuen natürlichen Nährböden. Arch. f. Derm. 171, 1935.
22. Hruzek, H. Pilzkulturen auf Gurkenschnitten. Ein neuer natürlicher Pilznährboden für Primär- u. Passagekulturen. Derm. Ztschr. 70, 1935.
23. Scholz, Ursula. Neue Nährböden für Pilze. Derm. Wschr. 176, 1935.
24. Plaut u. Grütz: Die Hyphenpilze oder Eumyceten. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen.
25. Grütz: Zum kulturellen Nachweis pathogener Fadenpilze mittels geeigneter Nährböden. Knolls Mitt. f. Ärzte, H. 3, 1926.
26. Gòmez J. de Cisneros, J. M. Il valore dei mezzi naturali per 10 studio dei dermatofiti.
I: I mezzi naturali a base di organi di animali. (Ist. f. Inf. Krankh. „Robert Koch", Berlin) Atti Ist. bot. ecc. Pavia IV s. 7, 59—74 (1936).
II. I mezzi naturali vegetali, i loro derivati ed i mezzi batterici. Atti Ist. bot. ecc. Pavia, IV, s. 7, 75—101 (1936).

Lebenslauf.

Als Sohn des Kapellmeisters Harry CHESTER wurde ich, Alexander Chester, am 5. Januar 1912 in Brooklyn New York geboren.

Meine Schulbildung erhielt ich in New York, wo ich im Sommer 1929 an der Franklin. K. Lane High School die Reifeprüfung ablegte. Anschließend bezog ich die Long Island Universität, wo ich das amerikanische medizinische Vorstudium absolvierte.

Von WS. 1932 an studierte ich Medizin an der Universität Bonn.

Zum Schluß meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Grütz herzlich für die Überlassung des Themas zu danken.